

Introduktionsvideo om arbetet på laboratoriet för klinisk mikrobiologi

Sara Koskinen

Examensarbete för (YH)-examen inom social- och hälsovård

Utbildning: Bioanalytiker (YH)

Vasa 2017



EXAMENSARBETE

Författare: Sara Koskinen

Utbildning och ort: Bioanalytiker, Vasa

Handledare: Ulla Penttinen & Ann-Christine Grönroos

Titel: Introduktionsvideo om arbetet på laboratoriet för klinisk mikrobiologi

Datum: 19.10.17

Sidantal: 30

Bilagor: video

Sammanfattning

Sjukhuspersonalen vet inte alltid vad som sker med prov som skickas till det kliniska laboratoriet för diagnostisering. Syftet med detta examensarbete var därför att göra en kort introduktionsvideo om arbetet vid laboratoriet för klinisk mikrobiologi. Videon är ämnad för personalen på sjukhuset samt för studeranden och övriga intresserade. Videon visar hur ett urinprov och ett svalgprov analyseras efter inlämning till laboratoriet, vilket ger en överblick i arbetsprocessen. Den teoretiska delen i arbetet beskriver främst diagnostiseringen inom bakteriologi samt laboratorieundersökningsprocessen.

Videon kompletteras med den skriftliga delen i arbetet som berör arbetspunkterna som finns vid laboratoriet för klinisk mikrobiologi vid Vasa centralsjukhus.

Den skriftliga delen baserar sig på litteraturforskningar, vetenskapliga källor och Vasa centralsjukhus egna laboratoriehandbok. Videon är filmad vid Vasa centralsjukhus laboratorium och editerad efter egna kunskaper. Introduktionsvideon kommer finnas tillgänglig att se på nätet.

Språk: Svenska Nyckelord: introduktionsvideo för klinisk mikrobiologi, mikrobiologisk diagnostik.

OPINNÄYTETYÖ

Tekijä: Sara Koskinen

Koulutus ja paikkakunta: Bioanalyytikko, Vaasa

Ohjaajat: Ulla Penttinen & Ann-Christine Grönroos

Nimike: Esittelyvideo työstä kliinisen mikrobiologian laboratoriossa

Päivämäärä: 19.10.2017

Sivumäärä: 30

Liitteet: video

Tiivistelmä

Tämän opinnäytetyön tarkoituksena oli tehdä kliinisen mikrobiologian päivittäisestä työstä lyhyt esittelyvideo. Video on kohdistettu sairaalan henkilökunnalla, opiskelijoille sekä muille aiheesta kiinnostuneille. Video käsittelee miten virtsa ja nielunäytteet analysoidaan sen jälkeen kun näyte on tuotu laboratorioon. Opinnäytetyön teoreettinen osuus käsittelee pääasiallisesti bakteerien diagnostiikka, sekä laboratorioprosessin eri vaiheita.

Opinnäytetyöhön kuuluu myös kirjallinen osuus, joka käsittelee työtä kliinisen mikrobiologian laboratoriossa Vaasan keskussairaalassa.

Kirjallinen osuus perustuu kirjallisuustutkimuksiin, tietolähteisiin sekä Vaasan keskussairaalan omaan laboratoriokäsikirjaan. Video on kuvattu Vaasan keskussairaalassa ja editoitu oman taitotason mukaisesti. Video tulee olemaan nähtävissä internetissä.

Kieli: Ruotsi Avainsanat: Kliinisen mikrobiologian esittelyvideo, bakteeridiagnostiikka

BACHELOR'S THESIS

Author: Sara Koskinen

Degree Programme: Biomedical Laboratory Scientist

Supervisor(s): Ulla Penttinen & Ann-Christine Grönroos

Title: Introduction Video About the Work at Clinical Microbiology Laboratory

Date: 19.10.2017

Number of pages: 30

Appendices: video

Summary

The purpose of this thesis was to make a brief introduction video about the work in clinical microbiology. The video is intended for the hospital staff as well as for the students and other interested viewers. The video has its biggest focus on how a urine sample and a throat sample are analysed after arriving to the laboratory, that also gives an overview of the working process. The theoretical part of the work mostly considers the bacterial diagnosis and the laboratory process.

The video is complemented by the written part of the thesis that concerns the working places at the clinical microbiological laboratory at Vasa Central Hospital. The written part is based on literature research, scientific sources and the laboratory manual at Vasa Central Hospital. The video was filmed at the laboratory in Vasa Central Hospital and edited by self-taught skills. The introduction video will be available to watch online.

Language: Swedish Key words: Clinical microbiology introduction video, bacterial diagnostics

Innehållsförteckning

1	Inledning.....	1
2	Syfte och frågeställningar	2
3	Laboratorieundersökningsprocessen	3
3.1	Preanalytiska skedet.....	3
3.2	Analytiska- och postanalytiska skedet.....	4
4	Teoretisk bakgrund	5
4.1	Färgning och mikroskopering	5
4.2	Odling av bakterier	7
4.3	Biokemiska tester.....	9
4.3.1	Katalastest.....	9
4.3.2	Oxidastest.....	9
4.4	Bestämning av antibiotikakänsligheten	9
4.5	PCR.....	11
5	Arbetspunkter vid laboratoriet för klinisk mikrobiologi.....	12
5.1	Provmottagningen	12
5.2	Tillverkning av odlingsmedier	12
5.3	Odling av prover	13
5.4	Odling av urinprov	13
5.5	Ytliga aeroba varprover	15
5.6	Odling av svalgprover och agglutinationstest.....	15
5.7	Djupa anaeroba varprover.....	16
5.8	Odling av blodprov	17
5.9	Arbetspunkt för avföringsprov	18
5.10	Andra arbetspunkter	19
5.10.1	Svampdiagnostisering.....	20
5.10.2	Klamydiadiagnostisering	20
5.10.3	MALDI-TOF	20
6	Framställning av video.....	21
6.1	Funktionellt examensarbete	21
6.2	Planering & utförande	21
6.3	Videos innehåll	23
7	Diskussion	24
8	Källförteckning.....	26

1 Inledning

Klinisk mikrobiologi finns till för att diagnostisera mikroorganismer så som bakterier, virus, svampar och parasiter som förorsakar skada mot patientens hälsa. Till klinisk mikrobiologi hör också uppgiften om att fastställa känsligheten för antibiotika. De vanligaste teknikerna för diagnostisering inom klinisk mikrobiologi är odling av prover, färgning, mikroskopering, molekylärbiologiska metoder och snabbtester.

Klinisk mikrobiologi kan delas in i sex olika specialområden med bakteriologi som den vanligaste specialområdet. Inom bakteriologi undersöks de flesta prover genom traditionell odling på skålar och sedan analysering av dem. Några vanliga prover inom bakteriologi kan vara från urin, avföring eller svalg som laboratoriepersonalen svarar på. Virologi, immunologi, mykologi, mykobakteriologi samt parasitologi är de andra specialområdena. Inom virologi används främst PCR för att undersöka virus. Vid vissa laboratorier för klinisk mikrobiologi görs också de egna skålarna för odling av bakterier och svampar. (Finlands Bioanalytikerförbund rf).

Laboratorieundersökningsprocessen spelar en viktig roll inom klinisk mikrobiologi för att få ett tillförlitligt provsvar som ska vara till hjälp för patientens tillfriskande. Den preanalytiska fasen har av stor betydelse för att få ett representativ provmaterial till laboratoriet för undersökning. Diagnostiseringen går efter angivna riktlinjer som kräver mycket kunskap och erfarenhet inom ämnet.

Vid Vasa centralsjukhus laboratorium för klinisk mikrobiologi finns det olika arbetspunkter var personalen analyserar respektive undersökning för arbetspunkten. Inom de flesta arbetspunkter odlas bakterier på agar som sedan undersöks genom biokemiska tester, färgning och observationer i mikroskop. Arbetet består av mycket mångsidigt handarbete samt att det kräver noggrann analysering och granskning.

Vid laboratoriet för klinisk mikrobiologi förekommer ännu handarbete fast nyare automatiserade metoder håller på att ta över de traditionella metoderna. Laboratoriets personal består inte endast av bioanalytiker eller laboratorieskötare utan också av specialister inom sjukhusmikrobiologi och mikrobiologiska specialistläkare som alla tillsammans består av ett gemensamt arbetsteam. (Finlands Bioanalytikerförbund rf).

2 Syfte och frågeställningar

Syftet med detta examensarbete skulle vara att ge den övriga personalen på sjukhuset och för andra utomstående en introduktion till hur arbetet går till vid laboratoriet för klinisk mikrobiologi. Personalen vet endast vilka prover som laboratoriet för klinisk mikrobiologi tar hand om men får sällan chansen att själva se hur diagnostiseringen går till. En video kunde ge alla en inblick i arbetsprocessen som genomförs och vilka arbetspunkter som finns vid klinisk mikrobiologi. Examensarbetet skulle bestå av en introduktionsvideo som kompletteras tillsammans med det skriftliga arbetet.

Detta examensarbete är ett beställningsarbete från laboratoriet för klinisk mikrobiologi vid Vasa centralsjukhus. Frågeställningarna i detta arbete är:

- Hur går arbetet till vid laboratoriet för klinisk mikrobiologi?
- Vilka arbetspunkter finns vid Vasa centralsjukhus laboratorium för klinisk mikrobiologi?
- Hur gör man en bra introduktionsfilm om detta?

3 Laboratorieundersökningsprocessen

Laboratorieundersökningsprocessen består av tre olika steg med den första som kallas preanalytiska skedet. Sedan kommer analytiska skedet och till sist postanalytiska skedet. En laboratorieundersökningsprocess som är rätt utförd genom varje skede är mycket viktig för att få ett tillförlitligt resultat åt patienten.

3.1 Preanalytiska skedet

Till den preanalytiska skedet hör val av undersökning, förberedning av patient, provtagning, provbehandling, transport och förvaring. Den preanalytiska skedet är den viktigaste skedet eftersom de fel som uppstår här kan göra att de följande stegen inte går att utföra. Enligt Plebani görs 70 % av felen i den preanalytiska skedet. Flera av de preanalytiska felen går inte att kontrollera eftersom också annan vårdpersonal kan vara delaktig i det preanalytiska skedet samt att patienten själv kan påverka skedet. De vanligaste felen som uppkommer är borttappad provmaterial, fel patient eller saknad av patientuppgifter. Andra fel kan vara att provet är satt i fel provtagningskärl, transporten sker på fel sätt eller att provet är taget från fel ställe. (Plebani 2012, s. 266). Inom mikrobiologi är kontamination en av de mest förekommande preanalytiska felen i bl.a. blododlingar, urinprover och varprover. Saknad av information om provtagningsstället är ett annat förekommande preanalytiskt fel. (Grönroos 2017).

Det första skedet i laboratorieundersökningsprocessen är beställning och val av undersökning. I Finland är det ofta läkaren som bestämmer detta men också annan vårdpersonal kan beställa vissa undersökningar. Sedan fortsätter processen med att informera patienten om ämnet och vilken undersökning som kommer att tas. Om patienten själv ska ta prover ss. urinprover behöver patienten få noggranna anvisningar gällande undersökningen. Det viktiga är att också förklara varför det är så noga med rätt provtagning så patienter förstår hur man får ett tillförlitligt provmaterial att undersöka. Om personalen istället tar provet finns det andra preanalytiska aspekter att tänka på. Aseptiken är viktig, speciellt vid mikrobiologiska undersökningar, personalen ska också komma ihåg att skydda sig själva. Vid provtagningstillfället är det ett måste med rätt identifiering av patienten. Provtagaren ska också komma ihåg att respektera patienten genom att tänka på patientens rättigheter. (Matikainen, Miettinen & Wasström 2016, s. 13 - 40).

Efter rätt provtagning ska provmaterialet märkas med rätt etikett och information som ska finnas med på provet är namn, personbeteckning, provtagningstid, undersökningens

beställare och vilken undersökning det är. I remissen ska det också finnas med provets material och varifrån provet är taget. Sedan ska det också stå om patienten har en infektion eller misstänkt infektion samt pågående antibiotika. Andra upplysningar om djur bett, utlandsresor och grundsjukdomar kan vara till nytta att ha med i remissen. (Hellstén 2005, s. 102). För framtida remisser kunde bilder av provtagningsstället vara ett förbättringsförslag. Detta kunde underlätta för laboratoriepersonalen att uppskatta betydelsen av bakteriernas kliniska betydelse genom att se hur exempelvis ett sår ser ut. (Grönroos 2017).

Förvaring och transport av material går alltid att läsa i respektive sjukhus egna laboratoriehandböcker. Transporttiden kan variera på helgen medan förvaringen är viktig så att provmaterialet inte blir oanvändbar. Speciellt vissa bakterieprover är känsliga mot långvarig förvaring och ska helst till laboratoriet så fort som möjligt. (Matikainen, Miettinen & Wasström 2016, s. 42 - 45).

Det är mycket viktigt med samarbete mellan vårdpersonalen och laboratoriepersonalen för att uppnå den bästa möjliga analysresultaten. Via telefonsamtal kan viktig information ges både innan provet tas och efter provtagningen. Laboratoriepersonalen kan alltid hjälpa till med upplysningar om provtagning, transport av provet och vilket provtagningsmaterial som kan användas. (Ericson & Ericson 2009, s. 138).

3.2 Analytiska- och postanalytiska skedet

Till den analytiska fasen hör främst undersökning och analys av patientproverna. Undersökningarna görs efter en bestämd metod och enligt tydliga anvisningar och riktlinjer. Analyseringen måste hålla kvaliteten som blivit angivet så att inga bristfälligheter förekommer i analyseringen som kan ge ett sämre resultat. Laboratoriepersonalens uppgift är att analysera proverna på rätt sätt. (Matikainen, Miettinen & Wasström 2016, s. 10 – 12).

Den sista skedet i laboratorieundersökningsprocessen är det postanalytiska skedet. I denna fas är den viktigaste uppgiften för laboratoriepersonalen värdering av patientens resultat och att se till att patientens resultat överförs till vårdenheten samt läkare. Laboratoriets uppgift är att se till om patientens resultat avviker från referensvärden och att kunna agera därefter. Om svaret är brådskande eller visar på ett analysresultat som ligger långt utanför referensvärdet ska laboratoriepersonalen snabbt kontakta vårdenheten. Läkare granskar slutligen resultatet och bestämmer om patientens behandling och medicinering. (Ajzner 2016, s. 166 - 170).

4 Teoretisk bakgrund

Den teoretiska bakgrunden berör främst diagnostiseringen av bakterier. Videons innehåll berör också därför bakteriediagnostiken. I den teoretiska bakgrunden finns också kort om Polymerase Chain Reaction (PCR) eftersom det tas upp i examensarbetet.

Inom bakteriologisk diagnostik måste det först avgöras om det är frågan om en infektionssjukdom förorsakad av bakterier. Med typiska bakteriefärgningar som ses i mikroskop kan man få inledande information som sedan förstärks med att göra bakterieodlingar och andra undersökningar. Resultatet svaras i de flesta fall på artnivå men om det inte går att få något specifikt namn svaras de på släktnivå. Sedan undersöks antibiotikakänsligheten för att veta vilka antibiotikum som fungerar mot bakterierna. (Carlson & Koskela 2003, s. 20).

4.1 Färgning och mikroskopering

Ett enkelt och snabbt sätt att få en uppfattning om vilken bakterie det är frågan om i ett prov är att titta på bakterier i ett mikroskop. Bakteriediagnostiseringen görs först efter att bakterierna har färgats med t.ex. gramfärgning. (Hellstén m.fl. 2005, s. 94). Gramfärgning är den vanligaste färgningsmetoden som upptäcktes av dansken Christian Gram redan under början av 1900-talet. Blå gramfärg indikerar på grampositiva bakterier medan röd gramfärg ses vid gramnegativa bakterier. Formen på bakterierna kan också anges vid mikroskoperingen och har en viktig betydelse för vilken bakterie det kan vara. Informationen som man får av mikroskoperingen kan vara tillräcklig för att kunna fortsätta diagnostiseringen i rätt riktning. (Brauner 2015, s. 622).

Bakteriefärgning görs på de flesta bakterieprover var det inte finns störande normalflora. Patientprover som inte passar för färgning är bland annat från munnen, svalgen samt avföringsprover medan olika sårsekrets-, vävnads- och sterila vätskeprover lämpar sig bättre för färgning. (Vuento & Vuopio 2010, s. 58).

Gramfärgningens utförande går ut på att först fixera provmaterialet genom att dra objektglaset över öppen låga. Sedan sätts färgningspreparatet kristalviolett på objektglaset i 1 minut. Därefter sköljes objektglaset snabbt under rinnande vatten och lösningen Lugol tillsätts på objektglaset i 1 minut. Sedan sköljes objektglaset under rinnande vatten och allt avfärgas med sprit så att överflödigt färg rinner bort. Objektglaset sätts igen under rinnande vatten för att till sist tillsätta kontrastfärgen safranin i 30 sekunder. Objektglaset sköljes en

sista gång för att sedan torka och vara klar för mikroskopering. (Manuselis & Mahon 2015, s. 10 – 11). Bilden visar till vänster gram negativa stavar och till höger gram positiva kocker i mikroskop som färgats med gramfärgning.

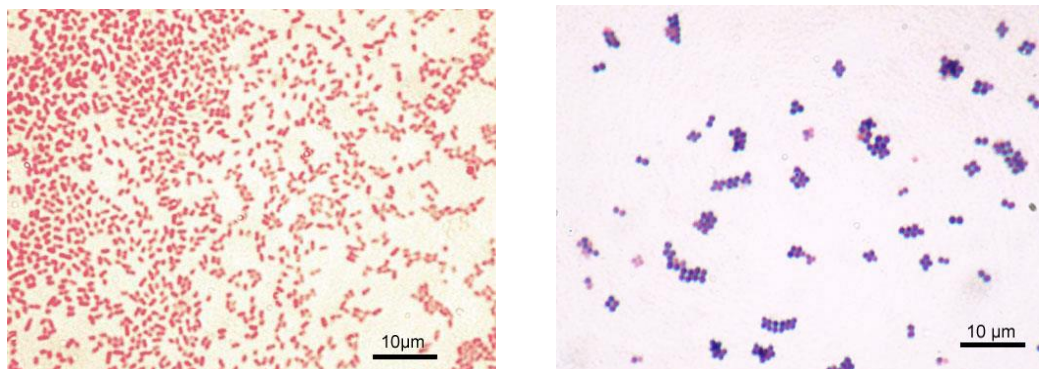


Bild 1 vänster. Gram negativa stavar, *Pseudomonas aeruginosa*. (Tambe 2005).

Bild 2 höger. Gram positiva kocker, *Stafylococcus aureus* (Tambe 2005).

Det finns också specialfärgningarna som kan användas i vissa fall. Färgning som kan undersökas i fluorescensmikroskop kan genomföras ifall det finns lite bakterier i provmaterialet. Då kan färgningsmetoden akridinorange-färgning användas för att endast kunna påvisa förekomsten av bakterier i provmaterialet, men kan då inte ge information om bakterien är gramnegativa eller grampositiva. (Neeraja m.fl. 2017, s 215 – 217; Forsgren & Kornvall 1996, s. 26)

Eftersom bakterierna är så små att de inte kan ses med blotta ögat används ljusmikroskop för att undersöka dem. Med en förstoring på 1000 – 1200 gånger kan man se bakterierna förutom vissa som är ännu mindre ss. mykoplasmer och klamydier. Bakteriernas form går att urskilja i mikroskop och indelas därför i olika grupper. Runda former kallas för kocker och cylinderformade för stavar eller baciller. Sedan kan också stavformade bakterier vara böjda och kallas vibrio eller spiralformade och kallas för spiroketer. Bakterierna kan gruppera sig på speciella sätt. Två kocker kan sitta ihop och kallas då för diplokokker, sedan kan kockerna bilda långa kedjor som ses vid Streptokocker. Kockerna kan också bilda grupper som vanligen ses hos stafylokokker. Carlson, P., Koskela, M. 2003. (s. 21 - 25)

4.2 Odling av bakterier

Odling av bakterier används fortfarande och är en av de bästa metoderna för diagnostisering av olika bakterier. Genom att odla bakterier kan man också lättare göra vidare undersökningar på bakterierna såsom resistensbedömning. För att få ett resultat som har en viktig klinisk betydelse för patienten är det mycket noggrant med rätt provtagning, förvaring och transport av provmaterialet. (Hellstén m.fl. 2005, s. 95).

Odlingsmediet som bakterierna växer i kan vara i fastform eller i flytande näringslösning. Det fasta näringsmediet kallas agar som sätts i låga plastskålar, också kallade petriskålar. Den flytande näringslösningen kan vara i form av blododlingsflaskor. De flesta bakterier växer under natten i ca 18 timmar i 37°C, detta gör att bakteriernas tillväxt stimuleras. Flera miljoner bakterier växer till under natten och bildar kolonier på näringslösningen så att de hålls ihop. (Hellstén m.fl. 2005, s. 95; Ericson & Ericson 2009, s. 138). Vissa bakterier växer bäst i ett högre halt av CO₂, därför används också skilda koldioxidinkubatorer för att odla bakterierna. Anaeroba bakterier klarar sig inte en lång tid i syrerik miljö utan måste vara i skilda anaeroba skåp eller behållare som är fritt från syre för att kunna växa. (Roberts 2015 s. 121).

Det finns många olika typer av agarmedium som bakterierna kan växa på. Icke-selektiva skålar gör att alla bakterier som finns växer på skålen, också svampar kan växa på dessa. Ett selektivt agarmedium inverkar istället så att endast specifika bakterier kan växa fram. Detta betyder att man bara kan få fram de växande bakterierna som man söker. (Brauner 2015, s. 620). Blodskålar och chokladskålar är icke-selektiva skålar som gör att nästan alla bakterier växer på dem. Kromogena skålar är till stor hjälp vid diagnostiseringen därför att bakteriekolonierna får en viss färg på skålen. T.ex. för urinodlingar används kromogena skålar för att underlätta undersökningen. Det finns väldigt många selektiva skålar t.ex. skålar menade för anaeroba bakterier, jäst, streptokocker, avföringsprover och så vidare. (Tomperi 2013, s. 12 – 14). Vid odling av anaeroba prover används ofta också anrikningsmedium i rör som hjälper tillväxten av svagt växande bakterier eller om det endast finns lite bakterier i provmaterialet. Anrikningsmedium måste först få inkubera i värmeskåp före det går att odla från anrikningsmediet på nya skålar ifall det syns att det växer i dem. (Roberts 2015 s. 119).

Odling på skålar sker genom ett specifikt odlingssätt som ger en uppskattning om bakteriens tillväxt. Provmaterialet sätts på skålen genom att stryka ut med bomullspinne eller droppa material direkt på skålen. Sedan dras täta drag med en utstrykningspinne tre gånger i olika riktningar för att stryka ut provmaterialet över skålen. Bakteriens mängd anges från 1 till 3 i

provsvaret beroende på hur långt bakterieväxten finns på utstrykningen. (Roberts 2015, s. 119 – 121). Bild 3 är en illustration av hur odlingen ska utföras på rätt sätt. Plats 1 i rött är odlingsmaterialet medan plats 2 – 4 är utstrykningen med början från plats två och den sista plats 4. Det mesta av bakterieväxten finns vid plats 1 medan det blir mindre för varje utstrykning.

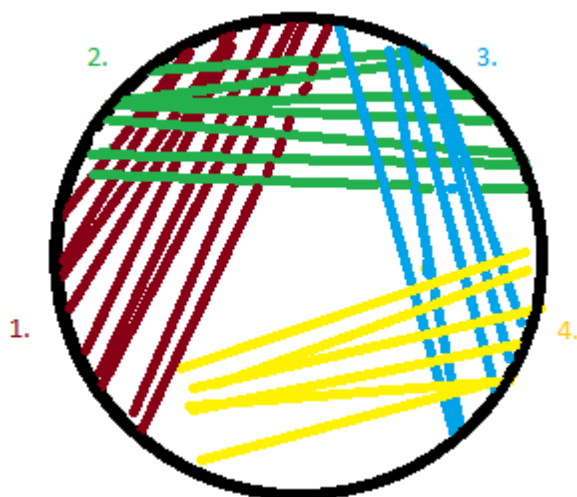


Bild 3. Utstrykning av provmaterial på odlingsskål.

Kolonimorfologi är en viktig del av diagnostiseringen av bakteriernas utseende på odlingsskålar som undersöks av laboratoriepersonalen. När bakterien fått växa fram bildas kolonier med olika utseenden som kan identifieras. Beroende på vilken skål bakterien växer på kan kolonierna se olika ut. Personalen som undersöker skålarna måste därför ha en stor kunskap om hur kolonierna kan se ut för att kunna leda diagnostiseringen i rätt riktning. Olika benämningar används för att beskriva kolonier t.ex. ”torr”, ”slemmig” och ”platt”. Andra viktiga karaktäristiska drag på kolonierna kan vara färg, storlek, konsistens, genomskinlighet och form. Bakterierna kan också ha en specifik lukt som kan tyda på vilken bakterie det är. Bland annat *Pseudomonas aeruginosa* har en fruktig och behaglig doft medan *Proteus mirabilis* har en stark och frän lukt. Hemolysering är ett annat karaktäristiskt drag som uppkommer när bakterien bryter ner röda blodkroppar i mediet. α -hemolysering ger en grön zon runt bakterien såsom *Streptococcus pneumoniae*. β -hemolysering gör att det bildas en genomskinlig ring runt bakterien som kan ses vid β -hemolytiska streptokocker och ofta runt *Stafylococcus aureus*. (Forsgren & Kornvall 1996, s. 27; Manuselis & Mahon 2015 s.172 - 175).

4.3 Biokemiska tester

Biokemiska tester användas för att snabbt kunna hjälpa laboratoriepersonalen att komma i rätt riktning när det gäller undersökning av bakterier. Analyserna görs om det finns enskilda kolonier att plocka upp eller så tas kolonier från renodlingar. Olika bakterier reagerar på varierande sätt vid biokemiska analyser. Det viktiga är att ingen bakterie går att diagnostisera endast från biokemiska analyser utan att också kunna känna till koloniernas utseende gör att testerna kommer till hjälp. (Forsgren & Kornvall 1996, s. 27).

4.3.1 Katalastest

Katalas är ett enzym som omvandlar väteperoxid till syrgas och vatten. Flera patogena bakterier använder denna metod för att kunna försvara sig själva mot väteperoxid som har en bakteriedödande effekt. För att undersöka om bakterien är katalas positiv sätts en bakteriekoloni ner i väteperoxid. Bakteriekolonin bryts ner och bildar syrgasbubblor, vilket är en synlig bekräftelse om att bakterien är positiv. (Iwase m.fl. 2013, s. 1). En av fördelarna med katalastest är för att stafylokocker är katalas positiva och kan därför skiljas ut från de andra gram positiva kockerna som är katalas negativa. (Acharya 2013).

4.3.2 Oxidastest

Oxidastest är en annan snabbtest som kan vara till hjälp vid identifieringen av olika bakterier. Vissa bakterier producerar enzymet cytokrom c oxidas som oxiderar reagensen tetrametyl-p-fenylendiamin-dihydroklorid och detta avger en lila färg som visar på att bakterien är oxidas positiv. *Pseudomonas sp.*, *Neisseria sp.* och *Camphylobacter sp.* är några av de vanligaste bakterierna som är oxidas positiva. (Acharya 2012).

4.4 Bestämning av antibiotikakänsligheten

När bakterien har identifierats görs resistensbestämning som undersöker vilken känslighet bakterien har mot olika antibiotikum. Detta innebär att antibiotikans verkningsseffekt kontrolleras för att kunna fastställa ifall ett antibiotikum går att använda just för den bakterien man vill få bort. Genom att undersöka resistenskänsligheten kan patienten få rätt antibiotika mot pågående infektion. (Ericson & Ericson 2009, s. 140).

Först måste bakteriekolonier spädas ut i NaCl, detta görs genom att sätta några kolonier i ett rör och blanda om till en grumlig lösning. Lösningen ska ha en densitet på McFarland 0.5 som går att mäta med en densitetsmätare. Bakterielösningen drejas ut på speciella skålar som

kallas Müller-hintonskål och på blod müller-hintonskål. När bakterien är jämt utspridd över skålen kan antibiotikalapparna sättas på. (EUCAST 2017, s. 6 – 14).

Antibiotikalapparna sätts på skålen genom att använda en så kallad diskmetod som är enkel att utföra och ett billigt sätt att bestämma resistensen. Antibiotikalapparna stämplas på odlingsskålen och får växa under natten. Om bakterien är känslig mot en viss antibiotikalapp växer den inte runt den utan istället lämnar en tom ring utan bakterieväxt runt antibiotikalappen. Vid avläsningen används MIC-värdet (minimum inhibitory concentration) som är den minsta koncentrationen av en antibiotika som kan ta död på en bakterie. MIC-skalan delas in i tre olika klasser, S som står för sensitiv, I för intermediär och R för resistent. Ringen som finns runt antibiotikalapparna mäts och utgående från mätningen ges ett svar. (Carlson & Koskela 2003, s. 26).

Antibiotikaresistens är en förmåga som mikrober främst bakterier har genom att motstå effekten av antibiotika. Naturlig resistens har alltid funnits genom att bakterier har genomgått genetiska mutationer eller överfört resistensen till andra. (Brinkac m.fl. 2017). Antibiotikaresistensen är ett växande globalt problem som har ökat genom felanvändning och missbruk av antibiotika genom åren. Detta har lett till att flera bakterier har blivit resistenta som sedan spridit sig vidare över hela världen. Antibiotikaresistensen bidrar till större kostnader och också ett stort hot mot människans hälsa. (Brinkac m.fl. 2017).

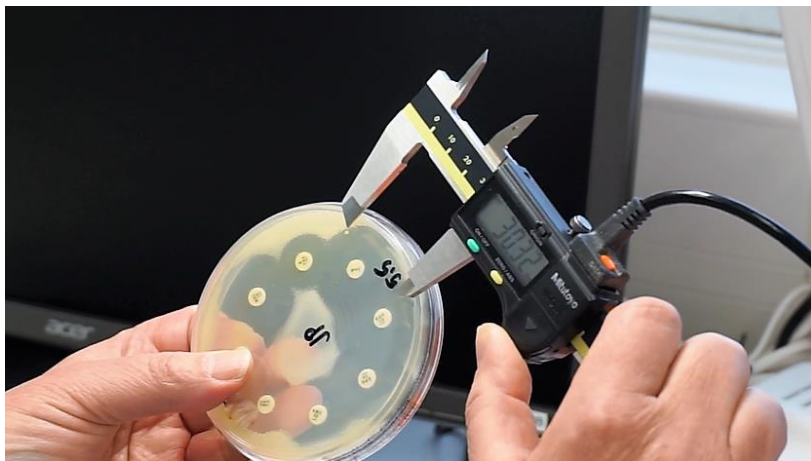


Bild 4. Mätning av ringarna runt antibiotikatabletterna.

Några av de vanligaste resistenta bakterierna i Finland är MRSA - meticilinresistent *Staphylococcus aureus*, VRE – vancomycinresistent *Enterococcus faecalis* & *Enterococcus faecium* och ESBL – Extended spectrum betalactamase. De vanligaste ESBL bakteriestammarna hittas hos tarmbakterierna *Eschericia coli* och *Klebsiella pneumoniae*. *Pseudomonas aeruginosa* är ofta naturligt resistent mot pencilin och kefalosporer medan

stammen MDR-P. *aeruginosa* är mera resistent än de andra stammarna och kan då förorsaka problem i bl.a. brännskador och kroniska sår. (Jalava, Kolho & Lyytikäinen 2017. s. 9 – 14). Enligt registret från Institutet för hälsa och välfärd över smittsamma sjukdomar fanns det år 2016 ~ 3500 patienter med ESBL-bildande *Eschericia coli*, ~ 400 patienter med ESBL-bildande *Klebsiella pneumoniae* och ~ 1700 patienter med MRSA. (THL 2017).

4.5 PCR

PCR står för polymerase chain reaction och är en molekylärbiologisk metod som kan användas inom diagnostiseringen av olika mikrober och virus. Med PCR teknik kan mikrobers arvs massa påvisas genom att ha en specifik DNA sekvens (primer) och få den att binda sig till mikrobens genom. Därefter kan den bundna sekvensen kopieras i miljontals exemplar. Metoden är både snabb och har en hög känslighet fastän det bara finns lite genetiskt material. (Solanki 2012, s. 98).

PCR tekniken går ut på att en reaktion sker i tre steg med hjälp av uppvärmning och nerkyllning. Sedan behövs specifika primers för den del i DNA:t som man vill kopiera samt DNA-polymeras och fria nukleotider. Det första steget är denaturation och då stiger temperaturen till 95°C som gör att mikrobens DNA spjälker till enkelsträngat DNA. Sedan sjunker temperaturen till 55 – 65°C i hybridiseringssteget och då fastnar primerna på vardera DNA sträng. I det sista skedet dvs. förlängningssteget stiger temperaturen till 72°C och med hjälp av DNA-polymeras och de fria nukleotiderna byggs det upp två nya strängar DNA från originalsträngarna. Denna process körs flera gånger tills det finns önskad mängd DNA-material. (Solanki 2012, s. 98 - 99).

PCR har blivit en allt vanligare metod att använda inom klinisk mikrobiologi, speciellt för sådana mikrober som är svårödlade såsom klamydia och virus. Det går också att undersöka bakterier som har en resistens mot något visst antibiotikum, bland annat MRSA. Då undersöks förekomsten av *mec A*-genen i provmaterialet. (Brauner m.fl. 2015, s 632 – 633).

5 Arbetspunkter vid laboratoriet för klinisk mikrobiologi

Vid Vasa centralsjukhus laboratorium för klinisk mikrobiologi finns det flera olika arbetspunkter för analysering och undersökning av olika mikrober. Proverna kommer från sjukhusets egna patienter samt från alla hälsovårdscentraler och hälsostationer som hör till Vasa sjukvårdsdistrikt. Laboratoriet har öppet varje dag från 7.00 – 15.00, då går det att ringa och lämna in prover. Patienter kan inte komma in till laboratoriet för klinisk mikrobiologi utan det är endast avsedd för personalen. På laboratoriet finns det 10 fasta arbetstjänster som laboratorieskötare samt en avdelningsskötare och en undersökningslaborant. Det finns också en mikrobiolog och en överläkare med specialisering inom klinisk mikrobiologi på plats. (Grönroos 2017).

5.1 Provmottagningen

När proverna kommer till laboratoriet tas de emot vid provmottagningen. Laboratoriepersonalen läser in proverna på datorn och kollar igenom remissen så att alla viktiga remissuppgifter finns med. För att underlätta arbetet får varje prov ett eget nummer som används under analyseringen. Detta nummer limmas fast som etikett eller skrivs ner på varje odlingskål. Vid provmottagningen måste också laboratoriepersonalen veta vilka odlingskålar som behövs för varje undersökning. Vid Vasa centralsjukhus tar personen som är vid provmottagningen också hand om blododlingsapparaterna. Vilket betyder att alla positiva odlingsflaskor förs vidare till blododlingssidan och negativa prover kastas bort. Den viktigaste uppgiften vid provmottagningen är att alla nya prover tas emot och undersöks endera vid laboratoriet eller skickas bort. I provmottagningen sitter också en sekreterare som hjälper till att svara i telefon och packa ner prover som ska sändas. Bl.a. alla serologiska prover blir bortskickade till Helsingfors och Åbo förutom HIV- och hepatit undersökningar. (Grönroos 2017).

5.2 Tillverkning av odlingsmedier

Vid Vasa centralsjukhus finns det en egen arbetspunkt för tillverkning av odlingsmedier och odlingskålar som används vid diagnostiseringen. Några av de vanligaste odlingsmedierna som tillverkas är alla blodskålar, chokladskålar och skålar som används vid resistensbestämning. Odlingsmedierna kokas i stora kokkärl som sedan noggrant portioneras ut i petriskålar. Det är viktigt att skålarna kontrolleras före användning så att de är rena och att bakterierna kan växa på dem. (Grönroos 2017).

5.3 Odling av prover

När de nya proverna kommer från provmottagningen finns det ofta en skild person som odlar de nya proverna och sätter in dem för inkubation i värmeskåp. Det är viktigt att få proverna odlade så snabbt som möjligt och att inte ha dem för länge att stå i rumstemperatur.



Bild 5. Odling av svalgprov på streptokockskål.

5.4 Odling av urinprov

Urinodlingar görs för att söka efter orsaken till urinvägsinfektioner. Som provmaterial används mittstråleurin, kateterprov, urinprov från urinsamlingspåse eller urinsamlingsdyna och blåspunktion. Det är viktigt att patienten inte urinerat inom de senaste 4 timmarna för att få ett provmaterial som innehåller de bakterier som förorsakar infektionen. Vid urinprovtagning måste det också tas i beaktande att det är viktigt med ordentlig tvätt av de yttre könsorganen, eftersom genitalområdets mikrobiota kan störa tolkningen av bakterieodlingen. (Ahlroth, E. 2015).

Undersökningarna som görs vid laboratoriet för klinisk mikrobiologi på Vasa centralsjukhus är urinproverna som tyder på bakterier (positivt svar) från bakteriescreening (undersökningen U-BaktSeu) och specialodling av urin (U-BaktEvi). Analysering och odling av urinproverna (U-BaktSeu) skickas endast till mikrobiologiska laboratoriet ifall analysapparaten vid laboratoriet för klinisk kemi signalerar om bakterier i urinproven. Alla specialodlingar av urin (U-BaktEvi) skickas direkt till laboratoriet för klinisk mikrobiologi för odling. (Kaukoranta, S. 2015 & 2016). +

Vid odlingen blandas urinprovet först om ordentligt. Sedan används en 1 mikroliters (µl) odlingssticka för att fånga upp urinen och dra ut den på en odlingskål. Utstrykningen sker

på ett visst sätt för att få en jämn yta med bakterier att avläsa till nästa dag. Odlingsskålen ligger i värmeskåp i 18–24 timmar med temperaturen + 35 - 37°C för att bakterierna ska börja växa. Nästa dag ges ett preliminärt svar när odlingsskålarna blir avlästa. (Engvall 2013, s. 28 - 29).

Varje morgon görs den första analyseringen av urinodlingsskålarna som växt under natten och ett preliminärt svar ges. Positiva urinodlingar ges svar på alltid ifall det är en bakterie som växer, om det är fråga om två bakterier svaras de ibland medan tre bakterier svaras som ”blandflora” (sekaflora på finska) och analyseras inte vidare. Ofta beror det på att hudens mikrobiota kommit med i urinprovet och stör därför avläsningen. Ifall det växer över 100 000 (10^5) bakterier/ml på skålen är det sannolikt en bakterieinfektion. Ifall svaret är 10 000 – 100 000 (10^4 – 10^5) bakterier/ml antyder det på infektion men behöver inte alltid vara det. Om svaret blir 1000 – 10 000 (10^3 – 10^4) kan det bero på infektion ifall patienten har symptom. När svaret är 1000 (10^1 – 10^2) bakterier/ml blir svaret negativt. (Eskelinen 2016).

Den vanligaste bakterien som hittas hos både män och kvinnor i urinodlingar är *Escherichia coli*, kolonierna på bild 6. Den hör till primära patogener tillsammans med den ovanligare *Staphylococcus saprophyticus* som kan orsaka urinvägsinfektion främst hos kvinnor. Till sekundära patogener som också kan hittas i urinodlingar räknas *Enterococcus* sp, *Klebsiella* sp, *Proteus* sp men främst *Proteus mirabilis*, också *Staphylococcus aureus* och *Pseudomonas aeruginosa* samt jäst kan upptäckas. Koagulasnegativa stafylokocker hör till sekundära patogener men undersöks endast ifall de växer rent eftersom de ofta hör till människans normala mikrobiota. Lactobaciller är inte patogena och hör till områdets mikrobiota, därför analyseras de inte. (Käypä hoito 2015).



Bild 6. *Escherichia coli* kolonier på CPS-skål med lila/vinröd färg.

5.5 Ytliga aeroba varprover

Varprover kan finnas var som helst på människans kropp men delas först in i ytliga varprover och djupa varprover samt i aeroba och anaeroba prover. Beställningen som görs vid centralsjukhuset är odling för ytliga aeroba varprover (Pu-BakVi2). Enligt Vasa centralsjukhus laboratoriehandbok kan man ta provmaterial från ytliga hudsår, kan vara t.ex. liggsår. Det går också att ta prov från aeroba kolonisationer på huden ss. från sår och näsa men också kateterspetsar går att använda som provmaterial. Från ögat, örongången och bihålorna beställs också odling av ytliga varprov (Pu-baktVi2). (Kaukoranta 2015).

Bakterieodlingarna odlas på både selektiva och icke-selektiva skålar beroende på varifrån provet är taget (Kaukoranta 2015). Ett negativt svar fås efter två dagar och de flesta positiva resultaten kan ges efter tre dagar. I svaret ges betydelsefulla patogena fynd samt antibiotika känsligheten. Om det växer flera patogena bakterier räknas de upp i den ordningen så att den viktigaste ligger först. Ifall det finns endast normal mikrobiota i odlingen ges svar på provet som blandflora eller som normalflora. (Nordmyr 2013, s. 29).

De vanligaste fynden som kan vara orsak till ytliga infektioner, speciellt i huden är *Stafylococcus aureus* och grupp A-streptokocker dvs. *Streptococcus pyogenes*. Huden koloniserar av flera olika bakterier bland annat av koagulasnegativa stafylokocker. Därför kan det ibland vara svårt att veta vilka bakterier som har en klinisk betydelse. Laboratoriepersonalen ger därför ut ett svar över de bakterier som sannolikt är relevanta fynd. Läkarens uppgift är att tolka svaret ifall de angivna bakterierna med resistensbestämning är av betydelse för patientens kliniska symptom och därefter kunna ge en lämplig behandling. (Bernander & Brauner 2015, s. 740 - 743)

Vid Vasa centralsjukhus analyserar en laboratorieskötare alla ytliga aeroba varprover. Till arbetsuppgifterna hör förutom att analysera varprover att också undersöka alla odlingar från svalgprov, MRSA, ESBL-bakterier, VRE, vissa hygienprover och grupp B streptokocker från gravida kvinnor.

5.6 Odling av svalgprover och agglutinationstest

Svalgprovet tas från tonsillerna eller från svalgets bakre vägg med bomullspinne. Som provtagningsmaterial används geltransportsticka som sänds iväg till laboratoriet. Provet odlas på selektiva streptokockskålar för att få bort vissa andra bakterier som hör till normalfloran. Nästa dag när proverna fått växa under natten undersöks odlingsskålarna ifall

det finns streptokock grupp A, C eller G. Sedan görs resistensbestämning på positiva odlingar. Ett negativt svar fås efter 2 dagar och positiva svar efter 2–3 dagar. (Kaukoranta 2010).

De patogena streptokockerna i grupp A, C och G är betahemolyserande, vilket betyder att blodkropparna i blodagarn bryts ner och avger ett ljust och genomskinligt utseende. Grupp A-streptokocker (*Streptococcus pyogenes*) är den mest humanpatogena streptokocken och är ett viktigt fynd i odlingen. (Schalén 2015, s. 187)

För att bestämma vilken streptokockgrupp bakterien hör till görs agglutinationstest. Detta kan påvisas genom att på nästan varje patogen streptokock finns det specifika kolhydratantigener som agglutinerar dvs. klumpar ihop sig med motsvarande antigener som finns i undersökningskitets latexreagenser. Först görs ett extrakt av några bakteriekolonier som man vill analysera. Sedan blandas bakterieextraktet ihop med varje enskild latexsuspensionsgrupp på ett reaktionskort. Gruppen som börjar agglutinera är positiv. (Thermofisher 2016). I examensarbets tillhörande video visas det hur ett svalgprov analyseras. Det finns också en kort snutt av hur det går till vid agglutinationstest när grupp A agglutinerar.

5.7 Djupa anaeroba varprover

De djupa anaeroba proverna kan vara svårare att avläsa och kräver därför mycket goda kunskaper inom klinisk mikrobiologi. Vid Vasa centralsjukhus läser ofta en person av de nya proverna medan en annan fortsätter analysera andra dagens prover.

Vid beställning av undersökningen för djupa anaeroba prover (Pu-BaktVi1) vid Vasa centralsjukhus är den preanalytiska fasen är mycket viktig eftersom det ger en möjlighet att hitta de anaeroba bakterierna. Därför är rätt provtagning väldigt betydande samt en väl ifylld remiss så att laboratoriet vet vilka skålar ska odlas på och vilka bakterier som är betydelsefulla i svaret. Enligt Vasa centralsjukhus laboratoriehandbok kan prover tas från operationssår, bettsår och andra traumatiska sårinfektioner. Andra prover är biopsier, abscesser, djupa infektioner dvs. från inre organ. Också punktionsvätskor, långvariga infektioner i örongång, kroniska sår, bihåleinflammation och främmande föremål såsom pacemaker är indikationer till att ta ett anaerobt prov. (Kaukoranta 2016).

Provet odlas på både selektiva och icke-selektiva skålar samt sätts beroende på provmaterial i anrikningsmedium. Till de selektiva skålarna hör bland annat anaeroba skålar t.ex. FAA-

skål, på FAA-skål borde alla anaeroba bakterier kunna växa. På alla prover görs också färgning med undantag vid prover som är tagna med bomullspinne. De vanligaste svamparna såsom *Candida albicans* kan också anges i svaret. Negativa prover ges svar på två dagar efter att provet blivit odlad men får växa minst 5 dagar till för undersökning av ovanliga långtidsväxande bakterier. Positiva svar fås vanligen efter 2–3 dagar medan bestämningen av anaeroba bakterier kan ta upp till 4–7 arbetsdagar. (Kaukoranta 2016).

Bakterier som hittas i djupa anaeroba prov beror mycket på varifrån provet är taget. Ifall provet är taget från djupa hudinfektioner behöver det inte alltid vara anaeroba bakterier som förorsakar dem utan också samma bakterier som hittas i ytliga sår kan påträffas ss. *Staphylococcus aureus*. Ibland kan det hittas både aeroba och anaeroba bakterier av klinisk betydelse. (Grönroos 2017).

De vanligaste anaeroba bakterierna kan delas in i grampositiva och gramnegativa fynd. De grampositiva bakterierna som kan ha betydelse för infektioner är olika arter inom *Clostridium spp.*, *Propionibacterium spp.*, *Actinomyces spp.* och *Peptostreptococcus spp.* Medan gramnegativa fynd är *Bacteroides fragilis* gruppen, *Porphyromonas spp.*, *Fusobacterium spp* och *Prevotella spp.* (Melhus 2010, s. 203; Fader 2015 s. 498).

5.8 Odling av blodprov

Blododlingar kan tas vid indikation på sepsis, allvarlig infektion, oförklarlig feber och vid oklara infektioner hos immunsuppressiva patienter. Provet tas i fyra flaskor, parvis i en aerob- samt anaerobflaska. Provtagningen är mycket viktig därför att provet lätt kan kontamineras av hudens normala mikrobiota. Aseptiken är därför av stor betydelse för att få ett svar som är tillförlitligt. I remissen ska det komma fram vad som misstänks orsaka symptomen ifall det kan vara endokardit, jäst, meningokock, kampylobakter eller anaerob infektion. Det ska också finnas med om patienten blivit biten av ett djur eller besökt subtropiska länder och fått feber samt om provet blivit taget från kanyl. (Kaukoranta 2016).

Vid Vasa centralsjukhus används blododlingssystemen Bactec som finns både vid det kliniska laboratoriet och vid sjukhusets jouravdelning. När blododlingarna blir positiva börjar apparaten signalera och laborariepersonalen tar ut proverna. Beroende på mikrobarten, mikrobmängden, patientens antibiotikamedicinering, tid före insättning av blododlingsflaskorna och blodprovsmängden tar det olika tider före Bactec signalerar om ett positivt svar. Vanliga aeroba bakterier som förorsakar sepsis kan bli positiva efter 10 – 20 timmar medan jäst, anaerober och andra långtidsväxande arter räcker 1 – 5 dagar för positivt

svar. Mikrobiologiska laboratoriet ringer alltid om positiva svar efter färgning och frågar eventuellt efter tilläggsinformation för vidare undersökningar och antibiotikakänsligheten. Svaret ges därefter och svaras till sist som slutligt när alla undersökningar är färdiga. Ett slutligt negativt svar fås vanligen efter 7 dygn. (Kaukoranta 2016).

Sepsis är en svår systeminflammatorisk reaktion förorsakad av mikrober som kommit ut i blodcirkulationen. De vanligaste bakterier som förorsakar sepsis i Finland är *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* och pneumokocker men också koagulasnegativa stafylokocker såsom *Staphylococcus epidermidis* och jäst kan vara patogena. Ofta finns det någon bakomliggande sjukdom eller annan orsak som kan göra att vissa drabbas oftare än andra. Hög ålder, defekt immunförsvar, granulocytopeni, malignitet, kirurgiska ingrepp, alkoholism och diabetes är några av riskerna för att kunna drabbas av sepsis. (Ritala & Valtonen 2003 s. 502 – 505; Brauner 2015 s. 645 - 647).

5.9 Arbetspunkt för avföringsprov

På avföringssidan tas alla avföringsprover emot. På grund av kontaminationsrisk är hela arbetspunkten för avföring i ett skilt rum. Prover som analyseras från avföring är bakterieodling 1 (F-BaktVi1) och bakterieodling 2 (F-baktvi2). Sedan analyseras också helicobakter (F-HepyAg), kalprotektin (F-Calpro), Enterohemorragisk *E.coli*-infektion (F-EHEC), *Clostridium* toxiner (F-CldTNhO), adenovirus antigen (F-AdenoAg), rotavirus antigen (F-RotaAg) samt springmask (F-Enve-O). På avföringssidan vid Vasacentralsjukhus avläses också puumalavirus antigen från serum (S-PuumAb) och mononukleos antigen från serum (S-MonoAb) fast de inte är avföringsprover. (Grönroos 2017).

Vid beställningen bakterieodling 1 (F-BaktVi1) undersöks *salmonella*-, *shigella*-, *campylo*- och *yersiniabakterier*. Dessa odlas på olika selektiva skålar för att identifieras. Sedan görs antibiotikabestämning på alla nämnda utom *yersiniabakterier*. Ett negativt svar fås efter 2 – 3 dagar. (Kaukoranta 2017). Bakterieodling 2 (F-BaktVi2) är menad för ineliggande patienter på sjukhuset som har koloniserade bakterier eller symptom av diarré efter behandling. Om *Clostridium* toxiner (F -CldTNho) är negativt kan bakterieodling 2 beställas. Undersökningen omfattar *Clostridium difficile* odling samt förekomsten av *Staphylococcus aureus* och jäst i odling. (Kaukoranta 2015).

På arbetspunkt för avföring undersöks proverna genom odlingar på selektiva skålar och genom att köra prover i PCR-system. *Clostridium difficile* fås fram genom PCR metod dvs. Polymerase Chain Reaction medan bakterieodlingarna 1 och 2 odlas ut på skålar. Snabbtester görs på bland annat rotavirus och adenovirus. (Grönroos 2017).



Bild 7. Arbete på arbetspunkt för avföring i dragskåpet.

5.10 Andra arbetspunkter

Vid Vasa centralsjukhus laboratorium för klinisk mikrobiologi finns det också andra mindre arbetspunkter. Analyseringen sker inte dagligen vid dem utan istället ca 1 gång per vecka. Svamp och Klamydia analyseras på laboratoriet nån gång i veckan. Apparaten MALDI-TOF används dagligen av alla som undersöker odlingar samt vid analysering av blododlingar. Om det finns bakterier som man är osäker på är MALDI-TOF till mycket hjälp för att snabbt kunna leda diagnostiseringen i rätt riktning.

Det hör också till klinisk mikrobiologi att ge svar om HIV samt hepatit resultatet till patienterna. Mikrobiologen ger svar på de positiva hepatit och HIV undersökningarna medan laboratoriepersonalen får ge svar på de negativa. Själva proven analyseras vid kliniska kemilaboratoriet på deras stora automatlinje (Cobas) medan det slutliga svaret granskas vid klinisk mikrobiologi. Andra undersökningar som också görs på klinisk mikrobiologi är undersökning av luftvägsvirus (-RvirAG,) influensa A och B virus antigen (-InfABAg), influensa A och B virus nukleinsyra (-InfABNh) och *Streptococcus pyogenes* antigen (Ps-StrAAg). (Grönroos 2017).

5.10.1 Svampdiagnostisering

Som undersökningsmaterial för svampdiagnostisering vid laboratoriet för klinisk mikrobiologi används material från nagel, hud, hår samt slemhinneprov. Först tittas svampproverna nativt i mikroskop med hjälp av fluoresensmikroskopiering. Sedan odlas proverna på två olika selektiva skålar som får växa i 4 veckor i 30°C. Om provet varit positivt nativt men inte växer efter 4 veckor får den växa 2 veckor till. Den vanligaste orsaken till svampinfektioner är dermatofyter som tillhör familjen *Trichopyton-* (*T.*), *Epidermophyton-* (*E.*) och *Microsporum-* (*M.*). Jästsvamp ss. *Candida*-släkten undersöks också men bara *Candida albicans* ges svar på artnivå vid laboratoriet för klinisk mikrobiologi vid Vasa centralsjukhus. Svampproverna undersöks cirka en gång i veckan medan de nativa proverna undersöks efter 1–2 dagar. (Käypähoito 2010; Grönroos 2017).

5.10.2 Klamydiadiagnostisering

Vid laboratoriet för klinisk mikrobiologi utförs en gång i veckan klamydiaprover. Som provmaterial används urinprover eller prover tagna med bomullssticka från cervix, svalget eller rektum. På samma gång som analyseringen av *Chlamydia trachomatis* undersöks, söks också förekomsten av *Neisseria gonorrhoeae* infektion.

Vid analyseringen är det mycket viktigt med att se efter så att inte provmaterialet kontamineras eftersom analyseringen görs med PCR-metod. Specifika primers används för att kunna lokalisera bakteriernas DNA i provmaterialet. (Kaukoranta 2017).

5.10.3 MALDI-TOF

MALDI-TOF är en apparat som genom en form av masspektrometri kan identifiera bakterier och svampar. MALDI-TOF är förkortningen på ”Matrix Assisted Laser Desorption Time-of-Flight” som har blivit populärt att använda inom diagnostisering. (Chakrabarti 2016, s. 26). Det behövs en ren koloni av bakterien eller svampen som därefter sätts på en metallplatta med utmärkta platser. Sedan sätts matrixreagens på materialet vars uppgift är att joniserar proteinerna som finns i bakterierna. Plattan sätts i apparaten och bestrålas med laser. De joniserade proteinerna åker genom ett vakuumrör som mäter deras hastighet som är proportionell till massan. Svaret visas sedan med en serie av olika linjer som jämförs med apparatens egna databas och arten kan bestämmas. (Patel 2013, s. 340 - 342).

6 Framställning av video

För att framställa en video krävs det noggrann planering och mycket tid. Videon om arbetet på laboratoriet för klinisk mikrobiologi framställdes som en del av examensarbetet för att sprida kunskapen om hur arbetet går till på klinisk mikrobiologi. I detta kapitel tas det upp vad ett funktionellt examensarbete är, hur framställningen av videon gjordes samt videons innehåll.

6.1 Funktionellt examensarbete

Funktionellt examensarbete dvs. practice-based Research på engelska är en praktikbaserad forskning där en undersökning gjorts för att få ny kunskap inom ämnet genom praktiskt arbetet eller genom resultatet av detta. Arbetet består sedan av egna kreativa lösningar som visas genom t.ex. bilder, digitala medier, musik, design eller föreställningar. Till det kreativa arbetet måste det också finnas ett skriftligt arbete som innehåller fakta samt planering och utförande. Ett funktionellt arbete kan beskrivas skriftligt men går inte att fullständigt förstå utan hänvisning till det kreativa arbetet som är en viktig del av hela sammanhanget i arbetet. (Candy 2006, s. 1 – 3).

6.2 Planering & utförande

I början planerade jag tillsammans med handledaren vad som skulle komma med i videon. Eftersom det finns många arbetspunkter vid Vasa centralsjukhus mikrobiologiska laboratorium kunde vi inte ha med allt. Slutligen blev det så att den främsta fokusen låg på hur det ser ut när laboratoriet tar emot ett urinprov och ett svalgprov. De andra proverna tas emot på ungefär likadan sätt men hanteras annorlunda vid själva undersökningen och analyseringen.

Före jag började planera min egen video sökte jag fram andra videor gällande klinisk mikrobiologi. Detta gjorde jag för att både få nya idéer och för att se hur andra har gjort likande introduktionsvideor. Några av videorna som jag såg på Youtube var ”3 Klinisk mikrobiologi.wmv” av Landstiget varmland som publicerats 2011. Videon fokuserade främst på smittskydd och visade inte så mycket från laboratoriet. Videon ”Klinisk Mikrobiologisk Afdelning – Patienten først” av OUH Odense Universitetshospital – Svenborg sygehus, 2017 beskrev ett kliniskt mikrobiologiskt laboratorium. Eftersom videon var på danska var det svårt att förstå vad som sades när det inte fanns text. Detta gjorde att jag bestämde mig för att inte använda en röst i min video eftersom det lättare går att översätta text för tittare som

inte förstår svenska. På engelska fanns det flera videor om klinisk mikrobiologi. T.ex. videon ”Go Inside a Clinical Microbiology Lab” av American Society for Microbiology, 2016. Engelska videor om arbetet på laboratorium är lite annorlunda i jämförelse med hur det fungerar i finska laboratorium. Det fanns inte så många bra videor om klinisk mikrobiologi på finska men Fimlab hade en mycket fin video som allmänt beskriver om hur laboratoriets diagnostik fungerar. Videon heter ”Fimlab – Tiedosta hyöty” av Fimlab, 2017.

Planeringen gjorde jag noggrant genom att skriva ner allt som skulle finnas med i videon, så att inget skulle glömmas bort. Filmningen gjordes med systemkameran Sony A5100 och det tog ungefär en förmiddag att filma allt. Flera olika filmvinklar och idéer kom jag på när man var på plats eftersom det var lättare att se hur det passade in då. Nästan allt videomaterial som blev taget gick att använda. Det var viktigt att inte filma något sådant var patientuppgifter kunde ses eftersom patientens integritet skyddades.

Efterbehandlingen tog mycket längre tid att utföra eftersom det var många videosnuttar att gå igenom. Först skulle alla videosnuttar namnges för att det skulle vara lättare att hitta dem senare. Sedan försökte jag få dem att passa ihop och skriva tillhörande information om arbetsprocessen som skulle finnas med i videon. Efterbehandlingsprogrammet som användes var Adobe Premiere Pro CC.

Musiken var svår att hitta eftersom det inte finns så mycket gratis musik tillgängligt. Tills sist valde jag ändå något glatt men som inte var för märkbar. Jag ville att fokuseringen skulle ligga på videons innehåll och inte musiken. Det viktiga i videon var att det inte fick vara med för mycket information utan skulle istället vara lättförståelig text med lagom mycket information. Det blir mycket enklare att följa med då. Dessutom fick videon inte heller vara för lång eftersom det blir tungt att följa med långa introduktionsvideor.

När första versionen var färdig sändes den in åt handledaren för granskning. Sedan rättades alla fel och det sista lades ihop. Videons läng blev ca 5 minuter, vilket är en passande läng för en introduktionsvideo. Videon kommer finnas tillgänglig att se på Vasa centralsjukhus hemsida. Videon går inte att kopiera eller använda som eget utan är skyddad av tillverkaren enligt upphovsrättslagen, däremot får den alltid visas vid t.ex. undervisningar och föreläsningar.

6.3 Videons innehåll

Videon börjar med att man får se laboratoriets ingång och provmottagningen. Sedan tas ett urinprov emot, varefter etiketter och nummer skrivs ner på rör och skålar. Urinprovet odlas på CPS-skål och sätts in i värmeskåpet. Videon fortsätter med att visa upp bakterien *E.coli* på CPS-skålen och sedan hur det ser ut om det är mikrobiota på skålen (sekaflora) dvs. flera olika bakterier. En bakterielösning görs på bakteriefyndet som drejas ut på skålen. Antibiotikalapparna stämplas på och odlingsskålen får växa till under natten. Antibiotikakänsligheten avläses nästa dag och det slutliga provsvaret anges.

Den andra delen av videon fortsätter med att ett svalgprov läses in vid provmottagningen. Provet odlas ut på ett selektivt streptokock-skål och får växa under natten. Nästa dag upptäcks beta-hemolyserande kolonier. Därefter görs agglutinationstest på bakterierna. På testplattan agglutinerar grupp A dvs. *Streptococcus pyogenes*. En bakterielösning görs sedan som blandas om och drejas ut på blod müller-hintonskålar. Sedan stämplas de rätta antibiotikalapparna ut på skålen. Nästa dag avläses antibiotikakänsligheten och ett slutligt svar anges. I slutet av videon visas några av de andra arbetspunkterna vid klinisk mikrobiologi. En kort visning från mikroskoperingen, svampdiagnostiseringen, arbetspunkt för avföring och MALDI-TOF visas till sist.

7 Diskussion

Syftet med arbetet var att framställa en introduktionsvideo om hur arbetet går till på laboratoriet för klinisk mikrobiologi. Introduktionsvideon var avsedd för den övriga personalen på Vasa centralsjukhus men också för andra intresserade samt studerande. Examensarbetet var ett beställningsarbete från laboratoriet för klinisk mikrobiologi vid Vasa centralsjukhus.

Frågeställningarna var: Hur går arbetet till vid laboratoriet för klinisk mikrobiologi?

Vilka arbetspunkter finns vid laboratoriet för klinisk mikrobiologi vid Vasa centralsjukhus?

Hur gör man en bra introduktionsfilm om detta?

Jag tycker jag fick svar på mina frågeställningar genom att skriva arbetet och göra videon. I videon kan man inte ha med så mycket information och tycker därför att den inte ger lika mycket som den skriftliga delen gör. Däremot tycker jag att de tillsammans kompletterar varandra bra eftersom det går att läsa mera djupgående om vad som finns med i videon i det skriftliga arbetet. I videon berörs både fakta från den teoretiska delen om diagnostiseringen inom bakteriologi samt från beskrivningarna om arbetspunkterna. Laboratorieundersökningsprocessen tas inte upp i videon men är en mycket viktig del av hela arbetsprocessen och beskrivs därför i det skriftliga arbetet.

Jag hittade inga tidigare examensarbeten på videor som allmänt beskrev om klinisk mikrobiologi. Däremot fanns det videor om provtagningstekniker och om yrket bioanalytiker som t.ex. ”Sinustako bioanalyttikko?: esittelyvideo bioanalyttikon koulutuksesta ja työstä” av Järvinen, Hannele, Kosamo och Soili. I videon tas det kort upp om klinisk mikrobiologi. Det samma gäller examensarbetet ”Bioanalyttikko -Terveysalan laboriotoiminnan ammattilainen, Esittelyvideo opiskelusta ja ammatista” av Karjalainen och Toikkanen som beskriver kort om klinisk mikrobiologi med hjälp av video.

Det kunde ha varit lättare ifall jag hade riktat in mig på endast en eller två olika mikrobiologiska undersökningar istället för att skriva lite om allt. Därför tycker jag att det finns mycket goda förutsättningar för att arbeta vidare på liknande temaområden. Det som skulle vara intressant att se är mera djupgående video och skriftligt arbete på till exempel diagnostiseringen inom klinisk mikrobiologi. Sedan kunde det också vara mycket intressant att ha en liknade arbete och video om något annat laboratorium t.ex. från klinisk kemi.

De flesta källorna som finns med i examensarbetet är från litteratur samt vetenskapliga källor. Däremot är texterna om olika arbetspunkter främst taget från Vasa centralsjukhus laboratoriehandbok. Jag tyckte inte jag kunde ta information från andra laboratoriehandböcker därför att det inte alltid stämde ihop med den informationen som används vid laboratoriet vid Vasa centralsjukhus.

Jag önskar att videon kommer ge en inblick i arbetet på klinisk mikrobiologi för dem som ser den. Videon kan också vara till hjälp för sjukhuspersonalen att komma ihåg hur viktigt det är att vara noggrann med preanalytiken som i slutändan främjar patientens tillfriskande och omvårdnad. Jag hoppas också på att idén om att göra en video i sitt examensarbete inspirerar andra att pröva på något liknande för att sprida kunskapen om yrket som bioanalytiker.

8 Källförteckning

Acharya, T. (2013). Catalase test: principle, uses, procedure and results. *Microbe Online*. En nätartikel på Microbe Onlines hemsida. <http://microbeonline.com/> (hämtat: 13.09.2017).

Acharya, T. (2012). Oxidase test: Principle Procedure and oxidase positive organisms. *Microbe Online*. En nätartikel på Microbe Onlines hemsida. <http://microbeonline.com/> (hämtat: 13.09.2017).

Ahlroth, E. (2015). Virtsanäytteen bakteeriviljely. *Mikrobiologiaa bioanalyttikko-opiskelijoille – Kliinisen mikrobiologian työohjeiden päivittäminen*. (S. 26). Examensarbete från Tammerfors Universitet.

Ajzner, A. (2016). Adding Value in the Postanalytical Phase. *The Journal of the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. (S. 166–170).

Brauner, A. (2015). Klinisk mikrobiologi: Infektioner med allvarlig systempåverkan. Ingår i: Brauner, A., Arvidson, S., Blomberg, J., Castor, B., Falk, K., Kärre, K., Linde, A., Thalestam, M. *Medicinsk mikrobiologi & immunologi*. (S. 654 - 651). Lund: Studentlitteratur AB.

Brauner, A., Allander, T., Castor, B., Rotzén Österlund, M. (2015). Provtagning och laboratoriemetoder. Ingår i: Brauner, A., Arvidson, S., Blomberg, J., Castor, B., Falk, K., Kärre, K., Linde, A., Thalestam, M. *Medicinsk mikrobiologi & immunologi*. (S. 619–635). Lund: Studentlitteratur AB.

Bernander, S., Brauner, A. (2015). Klinisk mikrobiologi: Hud- och mjukdelsinfektioner. Ingår i: Brauner, A., Arvidson, S., Blomberg, J., Castor, B., Falk, K., Kärre, K., Linde, A., Thalestam, M. *Medicinsk mikrobiologi & immunologi*. (S. 740 - 743). Lund: Studentlitteratur AB.

Brinkac, L., Voorhies, A., Gomez, A., Nelson, K E. 2017. The Threat of Antimicrobial Resistance of the Human Microbiome. *Human Microbiome*. (S. 1-2).

Candy, L. 2006. Practice and Research. Practice-Based and Practice-Led Research..*Practice Based Research: A Guide. CCS Report V.1.0.* (s. 1 - 3).

- Carlson, P., Koskela, M. 2003. Bakteriologinen diagnostiikka. Ingår i: Huovinen, P., Meri, S., Peltola, H., Vaara, M., Vaheri, A., Valtonen, V. *Mikrobiologia ja infektiosairaudet Kirja II*. (s. 20 - 26). Jyväskylä: Duodecim.
- Chakrabarti, A. 2016. MALDI-TOF. *International Journal of Infectious Diseases* 45S 1-477. (s. 26).
- Engvall, M. (2013). Bakterieodling av urin. *Preanalytik vid mikrobiologisk undersökning av urin*. (S. 28–29). Examensarbete från Yrkeshögskolan Novia.
- Ericson, E. & Ericson, T. (2009). Mikrobiologisk diagnostik. *Klinisk mikrobiologi Infektioner–Immunologi–Vårdhygien*. (s. 137 - 148). Stockholm: Liber AB.
- Eskelinen, S. 2016. Virtsan bakteeriviljely (U-baktVi). Duodecim Terveyskirjaston laboratorieanvisningar på nätet. <http://www.terveyskirjasto.fi/terveyskirjasto/tk.koti> (hämtat: 26.09.2017).
- EUCAST European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. 2017. EUCAST Disk Diffusion Method for Antimicrobial Susceptibility Testing -Version 6.0. (s. 6 – 14).
- Fader, R C. 2015. Anaerobes of Clinical Importance. Ingår i: Manuselis, G. Mahon, C R. Lehman, D C. *Textbook of Diagnostic Microbiology, Fifth Edition*. (s. 498). Missouri: Saunders Elsevier.
- Finlands Bioanalytikerförbund rf. Kliininen mikrobiologia. En nätartikel på Finlands bioanalytikerförbunds hemsida. <http://www.bioanalyttikkoliitto.fi/> (hämtat: 11.3.2017)
- Forsgren, A., Kronvall, G. (1996). Klinisk bakteriologi – igår och idag. *Klinisk bakteriologi*. (s. 24–31). Lund: Studentlitteratur.
- Grönroos, A-C. 2017. Avdelningsskötare på kliniska mikrobiologiska laboratoriet. Personlig kommunikation.
- Hellstén, S., Heikkilä, R., Koukila-Kähkölä, P., Kurkinen, T., Meurman, O., Nummelin, R., Pastila, S., Richardson, M., Ylönen, H. (2005). Laboratoriodiagnostiikka. *Kliininen mikrobiologia terveydenhuollossa*. (s. 94-98). Helsinki: Suomen Kuntaliitto.

Hellstén, S., Heikkilä, R., Koukila-Kähkölä, P., Kurkinen, T., Meurman, O., Nummelin, R., Pastila, S., Richardson, M., Ylönen, H. (2005). Mikrobiologisten näytteiden ottaminen. *Klininen mikrobiologia terveydenhuollossa*. (s. 102). Helsinki: Suomen Kuntaliitto.

Iwase, T., Tajima, A. Sugimoto, S., Okuda, K., Hironaka, I., Kamata, Y., Takada, K., Mizunoe, Y. (2013). A Simple Assay for Measuring Catalase Activity: A Visual Approach. *Scientific Reports* 3. (s. 1).

Jalava, J., Kolho, E., Lyytikäinen, O. 2017. Moniresistenttinen mikrobien aiheuttamat infektiot ja esiintyvyys. *Ohje moniresistenttinen mikrobien tartunnantorjunnasta*. (s. 9 – 14). Anvisningar från Institutet för hälsa och välfärd THL.

Kaukoranta, S. (2017). -*CtGcNhO*, -*C. trachomatis* ja *N. gonorrhoeae*, nukleinhappo. Vasa centralsjukhus laboratoriehandbok på nätet. <http://www.vshp.fi/medserv/klkemi/search.asp> (hämtat: 14.10.2017)

Kaukoranta, S. (2016). *B-BaktVi*, viljely. Vasa centralsjukhus laboratoriehandbok på nätet. <http://www.vshp.fi/medserv/klkemi/search.asp> (hämtat: 05.10.2017)

Kaukoranta, S. (2017). *F-BaktVi1*, viljely 1 (*Salmon*, *Shig*, *Yers*, *Campylobacter*). Vasa centralsjukhus laboratoriehandbok på nätet. <http://www.vshp.fi/medserv/klkemi/search.asp> (hämtat: 05.10.2017)

Kaukoranta, S. (2015). *F-BaktVi2*, viljely 2 (*Clostr.Diff*, *S.aureus*, *Hiiva*). Vasa centralsjukhus laboratoriehandbok på nätet. <http://www.vshp.fi/medserv/klkemi/search.asp> (hämtat: 05.10.2017)

Kaukoranta, S. (2016). *U-bakteeri*, erikoisviljely virtsasta *U-BaktEvi*. Vasa centralsjukhus laboratoriehandbok på nätet. <http://www.vshp.fi/medserv/klkemi/search.asp> (hämtat: 11.3.2017)

Kaukoranta, S. (2015). *U-bakteeri*, seulonta *U-BaktSeu*. Vasa centralsjukhus laboratoriehandbok på nätet. <http://www.vshp.fi/medserv/klkemi/search.asp> (hämtat: 11.3.2017)

Kaukoranta, S. (2015). *Pu-BaktVi1*, viljely 1 (*anaerob+aerobiviljely*, syvämärkä). Vasa centralsjukhus laboratoriehandbok på nätet. <http://www.vshp.fi/medserv/klkemi/search.asp> (hämtat: 25.09.2017)

Kaukoranta, S. (2015). *Pu-BaktVi2, viljely 2 (aerobiviljely, pintamärkä)*. Vasa centralsjukhus laboratoriehandbok på nätet. <http://www.vshp.fi/medserv/klkemi/search.asp> (hämtat: 05.09.2017)

Kaukoranta, S. (2010). *Ps-StrVi, Ps-Streptococcus, viljely (beetahemolyytiset streptok.)*. Vasa centralsjukhus laboratoriehandbok på nätet. <http://www.vshp.fi/medserv/klkemi/search.asp> (hämtat: 13.09.2017).

Käypä hoito. 2015. Synty ja aiheuttajat aikuisilla. *Virtsatieinfektio*. Käypä hoitos rekommendationer från nätet. <http://www.kaypahoito.fi/web/kh/etusivu> (hämtat: 26.09.2017).

Lakshmi, V., Neeraja, M., Padmaja, K., Padmasri, C. 2017. Utility of Acridine Orange staining for detection of bacteria from positive blood cultures. *Journal of Microbiological Methods* 139. (s. 215 – 217).

Manuselis, G. Mahon, C R. 2015. Bacterial Cell Structure, Physiology, Metabolism, and Genetics. Ingår i: Manuselis, G. Mahon, C R. Lehman, D C. *Textbook of Diagnostic Microbiology, Fifth Edition*. (s. 10 – 11). Missouri: Saunders Elsevier.

Manuselis, G. Mahon, C R. 2015. Use of Colony Morphology for the Presumptive Identification of Microorganisms. Ingår i: Manuselis, G. Mahon, C R. Lehman, D C. *Textbook of Diagnostic Microbiology, Fifth Edition*. (s. 172 - 175). Missouri: Saunders Elsevier.

Matikainen, A., Miettinen, M., Wasström, K. (2016). Osa 1 Näytteenottajan työ. *Näytteenottajan käsikirja*. (S. 10 – 45). Helsingfors: Edita.

Melhus Å. 2010. Anaeroba bakterier och deras infektioner. *Klinisk mikrobiologi för sjuksköterskor*. (s. 203). Riga: Norstedts

Nordmyr, L. (2013). Förekomst av ytliga- samt djupa sårprov. *Preanalytik vid mikrobiologisk undersökning av sår*. (S. 29). Examensarbete från Yrkeshögskolan Novia.

Patel, R. 2013. MALDI-TOF Mass Spectrometry: Transformative Proteomics for Clinical Microbiology. *Clinical Chemistry* 59:2. (s. 340 – 342).

Plebani, M. (2012). Pre-analytical Errors and Patient Safety. *Journal of Biochemistry*, 31 (4), 265-270.

Rintala, E., Valtonen, V. 2003. Sepsis ja epäselvä kuumeilu. Ingår i: Huovinen, P., Meri, S., Peltola, H., Vaara, M., Vaheri, A., Valtonen, V. *Mikrobiologia ja infektiosairaudet Kirja II*. (s. 502 - 505). Jyväskylä: Duodecim.

Roberts, L. 2015. Specimen Collection and processing. Ingår i: Manuselis, G. Mahon, C R. Lehman, D C. *Textbook of Diagnostic Microbiology, Fifth Edition*. (s. 119 - 121). Missouri: Saunders Elsevier.

Solanki, G. 2012. Polymerase Chain Reaction. *International Journal of Pharmacological Research Volume 2 Issue 3*. (s. 98 – 99).

Schalén, C. (2015). Basal bakteriologi: Streptokocker. Ingår i: Brauner, A., Arvidson, S., Blomberg, J., Castor, B., Falk, K., Kärre, K., Linde, A., Thalestam, M. *Medicinsk mikrobiologi & immunologi*. (S. 187). Lund: Studentlitteratur AB.

Tambe, Y. 2005. Bild på nätet:

https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/0/08/Staphylococcus_aureus_Gram.jpg

(hämtad: 1.10.2017).

Tambe, Y. 2005. Bild på nätet:

https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/2/2d/Pseudomonas_aeruginosa_Gram.jpg (hämtad: 1.10.2017).

THL Institutet för hälsa och välfärd. 2017. Register för smittsamma sjukdomar, statistisk databas på nätet. <https://www.thl.fi/ttr/gen/rpt/tilastot.html> (hämtat: 30.10.2017)

ThermoFisher Scientific. (2016). *Streptokockgrupperingskit*. ThermoFishers arbetsmanual på nätet <https://www.thermofisher.com/us/en/home.html> (hämtat: 09.14.2017).

Tomperi, T. (2013). Bakterien viljely ja makroskoopinen tarkastelu. *Kuvallinen materiaali hiivan ja bakteerin tunnistamiseen*. (S. 12 – 14). Examensarbete från Yrkeshögskolan Metropolia.

Vuento, R., Vuopio, J. (2010) Mikrobiologian laboratorion osuus hoitoon liittyvissä infektioissa. Ingår i: Anttila, V., Rantala, A., Routamaa, M., Syrjälä, H., Vuento, R., Hellsén, S. (toim.). *Hoitoon liittyvien infektioiden torjunta*. (s. 57 – 67). Helsinki: Suomen Kuntaliitto.